

干旱胁迫下平邑甜茶叶片交替呼吸途径上调对光破坏的防御作用

徐秀玉^{1*}, 孙山^{2*}, 金立桥¹, 刘美君¹, 高辉远^{1**}

¹山东农业大学生命科学学院/作物生物学国家重点实验室, 山东泰安271018; ²山东省果树研究所, 山东泰安271000

摘要: 以平邑甜茶为实验材料, 研究了干旱胁迫下线粒体交替氧化酶呼吸途径(AOX途径)对平邑甜茶叶片的光破坏防御作用。结果表明: 干旱胁迫下线粒体AOX的蛋白表达量及AOX途径的相对活性均显著增加; 强光下水杨基羟肟酸(SHAM)抑制正常供水和干旱胁迫处理的植株的AOX途径后, 正常供水的平邑甜茶叶片的PSII最大光化学效率(F_v/F_m)、快速叶绿素荧光响应曲线中的J点相对可变荧光(V_j)、PSII反应中心关闭的比例($1-q_p$)和光合线性电子传递速率(ETR)几乎不受影响, 而干旱胁迫下的平邑甜茶叶片的ETR和 F_v/F_m 显著下降, $1-q_p$ 和 V_j 显著上升, 这表明干旱胁迫下抑制AOX途径后, 平邑甜茶叶片发生更严重的光抑制。上述结果表明: 干旱胁迫下, AOX途径在平邑甜茶叶片的光破坏防御中起重要的作用。

关键词: 平邑甜茶; 线粒体交替呼吸途径; 干旱胁迫; 光破坏防御; 水杨基羟肟酸(SHAM)

Up-Regulation of the Mitochondrial Alternative Oxidase Pathway Enhances Photoprotection in *Malus hupehensis* Leaves under Drought Stress

XU Xiu-Yu^{1*}, SUN Shan^{2*}, JIN Li-Qiao¹, LIU Mei-Jun¹, GAO Hui-Yuan^{1**}

¹State Key Laboratory of Crop Biology, College of Life Sciences, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018, China; ²Shandong Institute of Pomology, Tai'an, Shandong 271000, China

Abstract: The role of mitochondrial alternative oxidase (AOX) pathway in photoprotection in *Malus hupehensis* leaves under drought stress was studied. The results indicated that drought increased the amount of leaf AOX protein and also enhanced the activity of AOX pathway. Under high light intensity, and after treated with salicylhydroxamic acid (SHAM) to inhibit the AOX pathway, the maximal photochemical efficiency of PSII (F_v/F_m), the J steps at the relative variable fluorescence kinetics (V_j), the PSII excitation pressure ($1-q_p$), and electron transport rate (ETR) was not affected in water-replete plants, while the ETR and F_v/F_m significantly decreased, while the $1-q_p$ and V_j significantly increased in drought-stressed plants, indicating that under drought-stress condition, the inhibition of AOX pathway caused more severe photoinhibition. The results demonstrate that the AOX pathway plays an important role in the photoprotection in *M. hupehensis* leaves under drought stress.

Key words: *Malus hupehensis*; mitochondrial alternative oxidase pathway; drought stress; photoprotection; salicylhydroxamic acid

高等植物线粒体具有2条呼吸电子传递链, 即细胞色素呼吸途径(COX途径)和交替呼吸途径。交替途径是指一条从呼吸链泛醌处分支, 以交替氧化酶(AOX)为末端氧化酶的非磷酸化电子传递链。由于它不受跨膜质子梯度及ATP/ADP比例的限制, 可以绕过氧化磷酸化过程, 直接快速消耗NAD(P)H, 因此它可以消耗电子传递链上过量的电子, 阻止呼吸链的过氧化(McDonald 2008)。近年来的研究表明, AOX途径能够减少活性氧的产生, 在植物抗逆过程中发挥重要作用。强光是植物经常面临的逆境胁迫, 在自然条件下, 过剩光能会造成植物光合电子传递链的过度还原以及活性

氧的产生, 导致光抑制甚至光破坏的发生(Yoshida等2007)。有研究发现, AOX途径在拟南芥等植物中具有光破坏防御作用(Noguchi和Yoshida 2008)。此外, 我们实验室前期研究也表明, AOX途径在强光和弱光条件下对黄瓜植株都可以起到光破坏防御作用(孟祥龙等2012)。近年来, AOX途径在植物抗逆及光破坏方面成为人们的研究热点。

收稿 2015-11-03 修定 2015-11-20

资助 山东省自然科学基金(ZR2012CM039)和作物生物学国家重点实验室开放基金(2012KF05)。

* 共同第一作者。

** 通讯作者(E-mail: gaohy@sdau.edu.cn; Tel: 0538-8245985)。

但是, 迄今为止, 人们对AOX途径的光破坏防御作用的研究仅仅局限于正常水分条件下的植株, 而对于干旱胁迫下植物AOX途径是否也同样具有光破坏防御作用是个尚未解决的问题。干旱胁迫是自然界植物经常面临的逆境胁迫, 干旱引起叶片气孔关闭, 限制了光合作用原料CO₂的供应, 以致叶片发生更严重的光抑制(Chaves 1991)。同时干旱胁迫还可能抑制和呼吸代谢相关的酶的表达和活性(李勤报和梁厚果1988)。在这种情况下, AOX途径活性是否会受到干旱胁迫的影响, 失去光破坏的防御能力? 或者说AOX途径的光破坏防御能力是否受干旱胁迫的影响, 这是一个亟需阐明的科学问题。阐明干旱对AOX活性的影响作用以及AOX途径在干旱胁迫下的光破坏防御机制具有重要的理论意义。

此外, 前人研究AOX途径的抗逆作用都是用拟南芥、小麦、烟草等草本植物为材料, 而对木本植物AOX途径的光破坏防御作用迄今尚无人探讨。本文用平邑甜茶作为材料, 探讨AOX途径在木本植物中光破坏防御的作用, 并研究干旱对AOX途径的影响, 以及AOX途径在干旱胁迫下对光合机构光破坏防御的贡献。

材料与方法

1 植物材料与处理

试验材料于2015年5月上旬取自山东省果树研究所苗圃, 选择长势基本一致的两年生平邑甜茶 [*Malus hupehensis* (Pamp.) Rehd.] 实生苗, 移栽于内径25 cm、高30 cm的生长盆中, 每盆一株, 每盆装8.0 kg的大田土, 土壤的田间最大持水量为26.9%, 放在网室中培养, 培养期间昼(14 h)夜(10 h)温度为26~32 °C/22~28 °C, 中午最大光强为1 200 μmol·m⁻²·s⁻¹左右, 整个生长过程按照常规栽培管理。

6月份, 选取长势一致的苗木开始试验, 设2个土壤水分处理, 正常供水(土壤相对含水量为田间最大持水量的80%)和干旱胁迫(土壤相对含水量为最大持水量的40%), 每个处理3个重复。从6月6号起用称重法进行水分处理, 每天下午浇水使土壤含水量达到以上设置的处理水平, 以后每天及时补充水分, 整个试验期间, 盆内土壤的含水量始终控制在试验设计的范围之内并维持一周。选用

正常供水和干旱胁迫植株长势一致的功能叶, 将连体植株的功能叶分别用去离子水(对照组)和2 mmol·L⁻¹的水杨基羟肟酸(SHAM)溶液(处理组)在黑暗条件下预处理5 h, 然后擦干叶片表面的水分, 置于空气中恢复30 min, 用1 200 μmol·m⁻²·s⁻¹光进行光处理, 在连续光处理0、2和4 h时进行相应参数的测定。

2 交替呼吸速率测定

经过不同光照时间处理后, 分别测定不同水分处理的平邑甜茶叶片的交替呼吸速率。根据孟祥龙等(2012)的方法, 利用OXYTHERM氧电极(Hansatech, 英国), 在25 °C条件下测定呼吸速率, 反应室温度由OXYTHERM氧电极的控温装置自动控制。于反应杯中添加2 mL磷酸缓冲液(pH 6.8), 加入直径1.0 cm的叶圆片, 在黑暗中测定叶片的耗氧速率, 当耗氧速率达到稳定状态后, 根据10~20 min区间氧气浓度的下降斜率计算叶片总呼吸速率 [R_{total} , μmol (O₂)·m⁻²·s⁻¹]。然后吸出原缓冲液, 重新在反应杯中加入含有浓度为20 mmol·L⁻¹ SHAM的磷酸缓冲液, 在25 °C条件下恒温20 min, 在黑暗中测定叶片的耗氧速率, 当耗氧速率达到稳定状态后, 根据10~20 min区间氧气浓度的下降斜率计算AOX呼吸途径受抑时的剩余呼吸速率 [R_{rest} , μmol (O₂)·m⁻²·s⁻¹], AOX途径呼吸速率为: $R_{AOX} = R_{total} - R_{rest}$ 。为了消除植物之间及叶片之间自身存在差异, 我们以AOX的呼吸速率占总呼吸速率的比例 (R_{AOX}/R_{total}) 来反应平邑甜茶叶片的AOX途径的相对活性。本实验用2 mmol·L⁻¹ SHAM处理对正常供水和干旱胁迫的叶片的抑制程度没有明显差异, 抑制程度大约都在70% (结果未列出), 因此2 mmol·L⁻¹ SHAM被用于以后的试验中, 这一浓度也被证明对植物来说是足够低的, 可避免高浓度AOX抑制剂给叶片带来的副作用(Moller等1988)。

3 叶绿素荧光与快速叶绿素荧光诱导曲线的测定

采用FMS-2型便携脉冲调制式荧光仪(Hansatech, 英国)测定不同处理后平邑甜茶叶片叶绿素荧光参数。在不同干旱处理的植株上选择生长一致的功能叶做实验材料, 首先将选出的叶片(连体叶片)完全浸入蒸馏水(CK)或SHAM中处理5 h, 然后将叶片置于室内空气中30 min, 将处理的植株分为

两组, 一组叶片不经照光直接经过20 min暗适应后, 测得相应的叶绿素荧光参数; 另一组叶片放在 $1\ 200\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 的MSL1000N1(Y1)微波硫灯(宁波, 中国)下处理2 h和4 h后, 测定相关荧光参数。光合线性电子传递速率(ETR)按照Genty等(1989)的方法计算; 光适应下PSII反应中心关闭的比例($1-q_p$)按照Maxwell和Johnson (2000)的方法来计算。

用Handy-PEA连续激发式荧光仪(Hansatech, 英国)测定快速叶绿素荧光诱导动力学曲线(OJIP曲线)。将上述处理的叶片经20 min暗适应后, 由Handy-PEA提供饱和光($3\ 000\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), 作用时间为1 s, 即可得到OJIP曲线。从OJIP曲线上可以直接获得如下参数(Stresser和Stresser 1995): F_0 , 最小荧光(20 μs); F_m , 最大荧光。根据Stresser等(2000, 2004)的JIP-test, 对获得的OJIP荧光诱导动力学曲线进行分析。主要得到以下参数: 最大光化学效率(F_v/F_m)= $(F_m-F_0)/F_m$; 相对可变荧光(V_i)= $(F_i-F_0)/(F_m-F_0)$ 。 $\Delta F_v/F_m$ (%)为 F_v/F_m 的下降比例(%), 表示平邑甜茶叶片经过SHAM处理后 F_v/F_m 的下降值占对照组 F_v/F_m 的百分比, 计算公式为: $\Delta F_v/F_m$ (%)= $[(F_v/F_m)_{\text{CK}}-(F_v/F_m)_{\text{SHAM}}]/(F_v/F_m)_{\text{CK}}$ 。

4 AOX蛋白含量的测定

取0.2 g经过不同水分处理后植株的叶片, 加入1 mL提取液($400\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 蔗糖, $50\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ HEPES-KOH, pH 7.8, $20\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl, $2\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ EDTA, $2\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ MgCl, 1% β -巯基乙醇)研磨, 再加入0.05 g PVPP充分震荡。4 $^{\circ}\text{C}$ 、12 000 \times g离心5 min, 取上清液, 电泳时加样20 μL 。SDS-PAGE电泳结束后, 蛋白转至聚偏二氟乙烯膜(PVDF)后, 5%脱脂奶粉(Sigma公司)室温封闭2 h, 加入AOX一抗, 4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下孵育过夜。结合二抗(羊抗兔HRP, 1:4 000)后采用化学发光法显色成像, 使用Gel-Pro Analyzer 4.0分析系统进行半定量分析。

5 活性氧的检测

H_2O_2 的测定: 按照Patterson等(1984)的方法, 取叶片(2.5 cm \times 3 cm), 液氮研磨离心后, 上清液反应结束后, 测定钛- H_2O_2 的复合物在415 nm处的吸收值, H_2O_2 的浓度由标准曲线计算得到。

H_2O_2 组织化学染色: 参照Thordal-Christensen等(1997)及Liu等(2007)的方法。叶片在含0.1 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 3,3'-对氨基联苯胺(3,3'-diaminobenzidine, DAB)的50 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris-醋酸(Tris-acetate, pH 3.8)溶液中真空渗透。室温下黑暗中放置24 h进行染色。为去除色素, 将染色后的材料移入80%乙醇中70 $^{\circ}\text{C}$ 煮10 min。最后照相。

实验结果

1 干旱胁迫对平邑甜茶叶片呼吸途径的影响

表1表明干旱胁迫下平邑甜茶叶片总呼吸显著升高。总呼吸主要包括AOX呼吸和COX呼吸, 干旱胁迫下, AOX途径的呼吸显著升高, 上调了67.1%, 虽然COX途径的呼吸也略有增加, 但其所占总呼吸的比例(COX呼吸/总呼吸)与对照植株相比无显著差异。这表明干旱下总呼吸的增加主要是AOX呼吸增加造成的。

2 干旱胁迫对平邑甜茶叶片AOX蛋白水平的影响

为了分析干旱胁迫对AOX蛋白表达量的影响, 我们采用Western Blot的方法检测AOX蛋白含量的变化。AOX蛋白在植物体内有两种存在状态, 一种是AOX单体以二硫键连接, 形成同型二聚体, 称为氧化态AOX (非活性或低活性状态), 而单体则被称为还原态AOX (活性或高活性状态)(Vanlerberghe和McIntosh 1997)。如图1所示, 干旱胁迫下AOX的蛋白表达量明显增加, 其中氧化态AOX (70 kDa)和还原态AOX (35 kDa)都呈现相应的增加趋势, 而还原态AOX的增加量更为显著。

表1 干旱胁迫对平邑甜茶叶片总呼吸、COX呼吸和AOX呼吸的影响

Table 1 Effect of drought stress on total respiration, COX respiration and AOX respiration in *M. hupehensis* leaves

处理	总呼吸/ $\mu\text{mol}(\text{O}_2)\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	AOX呼吸/ $\mu\text{mol}(\text{O}_2)\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	COX呼吸/ $\mu\text{mol}(\text{O}_2)\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	AOX呼吸/总呼吸(%)	COX呼吸/总呼吸(%)
正常供水	2.59 \pm 0.46 ^b	0.73 \pm 0.15 ^b	1.86 \pm 0.32 ^a	28 \pm 5 ^b	72 \pm 10 ^a
干旱处理	3.35 \pm 0.60 ^a	1.22 \pm 0.29 ^a	2.13 \pm 0.29 ^a	36 \pm 7 ^a	64 \pm 7 ^a

同列数据旁不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

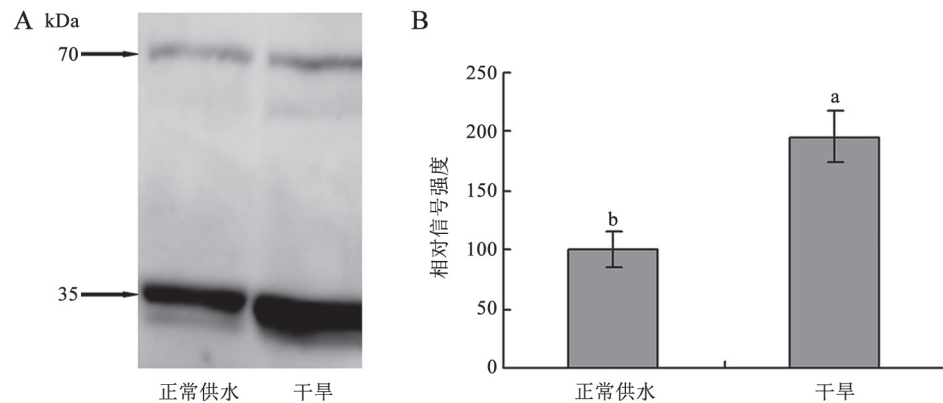


图1 AOX蛋白表达量分析

Fig.1 The analysis of the content of the AOX protein

A: AOX含量的Western Blot测定; B: 对A图中氧化态(~70 kDa)和还原态(~35 kDa) AOX蛋白总含量的定量分析。柱形上不同小写字母表示各处理间差异显著($P < 0.05$); 下图同。

3 光下AOX相对活性的变化

为了研究强光处理对正常供水和干旱胁迫下AOX途径相对活性变化的影响, 我们用 $1\ 200\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 强光连续照射平邑甜茶叶片, 分别在强光处理0、2和4 h时检测AOX的相对活性。结果如图2所示, 强光下, 正常供水和干旱胁迫的平邑甜茶叶片AOX活性均显著上调, 且其活性随照光时间增加而增加。而干旱胁迫下的平邑甜茶叶片线粒体AOX途径的活性上调的幅度显著高于正常供水条件下的平邑甜茶叶片。

4 SHAM处理抑制AOX途径后对平邑甜茶 F_v/F_m 的影响

F_v/F_m 反应叶片PSII的最大光化学效率, 也是反应PSII光抑制的典型指标。由图3-A可以看出, 正常

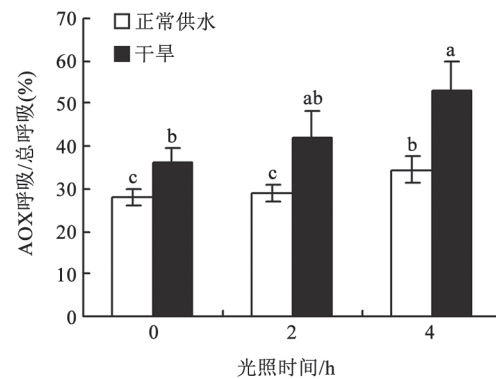


图2 干旱胁迫下AOX相对活性随照光时间的变化

Fig.2 The relative activities of AOX pathway in drought stressed leaves and in controls under light for different time
每次实验都进行5次重复。

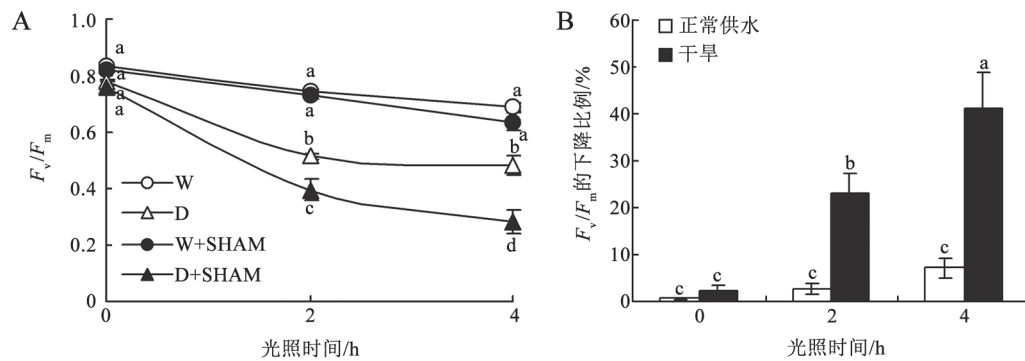
图3 不同照光时间下SHAM处理对正常供水和干旱条件下平邑甜茶叶片 F_v/F_m 的影响

Fig.3 Effects of SHAM treatments on the F_v/F_m in leaves of well-irrigated and drought stressed *M. hupehensis* under light for different time

W、D、W+SHAM和D+SHAM分别为正常供水、干旱、正常供水+SHAM和干旱+SHAM。每次实验都进行了5次重复, A图中12个数据点上的小写字母不同表示不同处理之间存在显著性差异($P < 0.05$)。

供水的平邑甜茶叶片照光后 F_v/F_m 值轻微下降, 而用SHAM抑制AOX途径后, 对 F_v/F_m 值无显著影响。强光处理2 h后, 与正常供水处理植株相比, 干旱胁迫下的平邑甜茶叶片的 F_v/F_m 显著下降。强光处理2 h时, 与单纯干旱胁迫相比较, 干旱胁迫下抑制AOX途径后 F_v/F_m 值下降了22.8%, 强光处理4 h时, F_v/F_m 值下降了41.2% (图3-B)。这表明干旱胁迫下, 抑制AOX途径后, 加重了平邑甜茶叶片的光抑制。

5 SHAM处理抑制AOX途径对平邑甜茶叶片OJIP曲线的影响

经过干旱胁迫后, 平邑甜茶叶绿素荧光诱导动力学曲线发生了显著的变化(图4-A)。说明干旱胁迫严重影响了平邑甜茶叶片PSII光能吸收和传递。

为了更好的分析AOX受抑和干旱胁迫对PSII电子传递的影响, 将叶绿素荧光诱导动力学曲线转换成相对荧光诱导动力学曲线的差值 ΔV_t , 由 ΔV_t

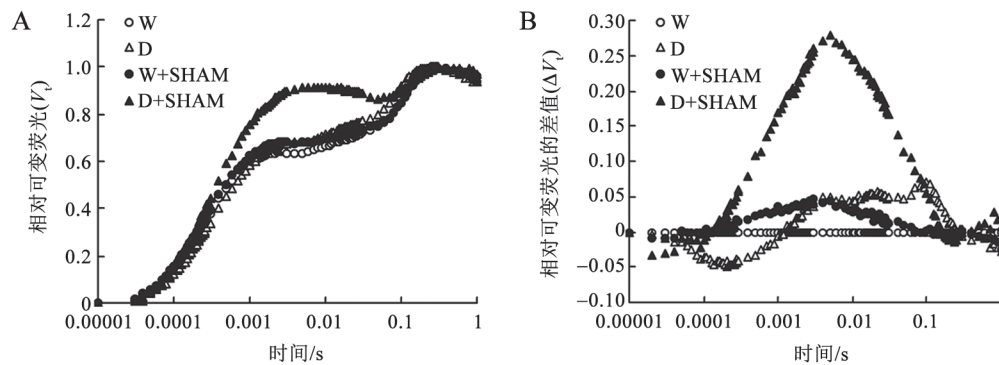


图4 光照条件下SHAM处理对正常供水和干旱胁迫下平邑甜茶叶片PSII相对荧光诱导动力学曲线的影响
Fig.4 Effects of SHAM treatments on the relative variable fluorescence kinetics of PSII in the well-irrigated or drought stressed leaves of *M. hupehensis* under $1\ 200\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ light

W、D、W+SHAM和D+SHAM分别为正常供水、干旱、正常供水+SHAM和干旱+SHAM。J点: 处于2 ms的荧光强度。

(图4-B)曲线我们可以看出, AOX受抑和干旱胁迫后, 曲线在J点处形成一个峰值, 说明光合电子传递链中电子从 Q_A 到 Q_B 传递受阻。

6 干旱胁迫抑制AOX途径对平邑甜茶叶片光合电子传递的影响

ETR是光合线性电子传递速率, 图5-A可以看出, 正常水分下, AOX受抑, ETR无明显变化, 而在干旱条件下SHAM处理抑制AOX途径后叶片ETR

显著下降。这表明, 正常水分下抑制AOX途径对光合电子传递速率没有显著影响, 而在干旱条件下, AOX途径受抑后, 光合电子传递速率明显受抑。

$1-q_p$ 可以反映光照叶片的过剩激发能的相对大小, 正常水分下, AOX受抑, $1-q_p$ 无显著变化, 而在干旱条件下, SHAM处理后叶片 $1-q_p$ 明显上升(图5-B)。上述结果表明, 干旱胁迫下AOX途径受抑后导致叶片过剩激发能的增加。

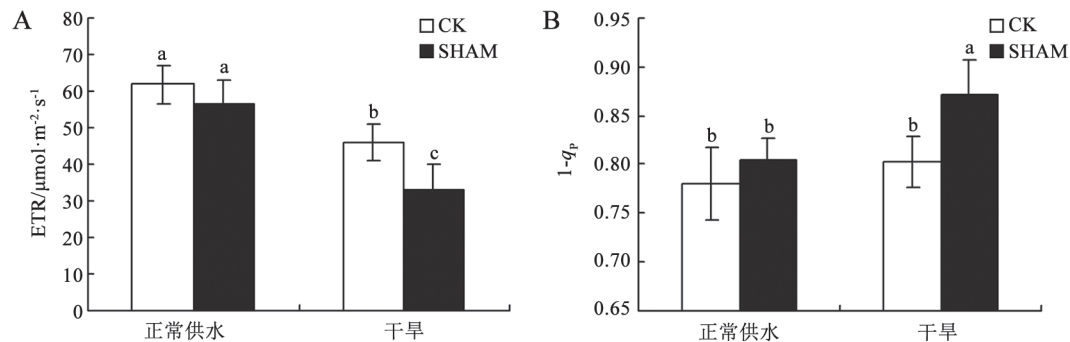


图5 光照条件下SHAM处理对正常供水和干旱条件下平邑甜茶叶片ETR和 $1-q_p$ 的影响
Fig.5 Effects of SHAM treatments on the ETR and $1-q_p$ in leaves of well-irrigated and drought stressed *M. hupehensis* under $1\ 200\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ light for 4 hours

7 抑制AOX途径对平邑甜茶叶片H₂O₂含量的影响

由图6可以看出, 正常供水条件下, AOX呼吸途径被抑制后并没有显著增加平邑甜茶叶片H₂O₂

的积累。与正常供水相比, 干旱胁迫下AOX呼吸途径受抑后, 叶片的H₂O₂含量显著增加。说明干旱胁迫下, 抑制AOX途径可促进叶片H₂O₂含量的积累。

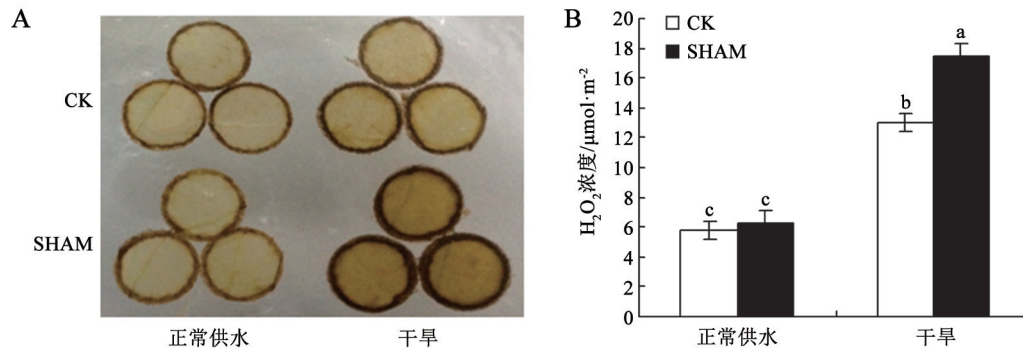


图6 SHAM处理对正常供水和干旱条件下平邑甜茶叶片中H₂O₂含量的影响

Fig.6 Effects of SHAM treatments on the H₂O₂ content in leaves of well-irrigated and drought stressed *M. hupehensis*

讨 论

本研究表明, 平邑甜茶在干旱胁迫下AOX的蛋白表达量及活性明显上升, AOX途径受抑后, 强光会加重平邑甜茶的光抑制。说明干旱胁迫下AOX活性主动上调, 有效地缓解植物的光抑制。

有许多的研究表明生物和非生物胁迫会使AOX的表达量上升, 这主要是因为环境胁迫会导致植物体内活性氧的上升及影响细胞内的平衡代谢, 而AOX的增加可以减少活性氧的产生(Wanger 1995; Maxwell等2002; Czarna和Jarmuszkiwicz 2005; Borecky等2006)。研究表明, 干旱等渗透胁迫可以诱导活性氧的积累(Bartoli等2004), 本实验也证明了这一点(图6), 而活性氧的积累可以引起细胞内产生氧化胁迫, AOX参与形成抗氧化防御体系, 保护植物线粒体免受氧化损伤, 维持植物细胞中的能量平衡(Borecky等2006; Armstrong等2008), 我们推测活性氧的增加可能通过信号转导过程, 参与了AOX的蛋白表达及活性的调控。具体的机制尚需更多的研究来证明。

与单纯的干旱胁迫相比较, 干旱胁迫下, 抑制AOX途径后, 平邑甜茶叶片的 F_v/F_m 的下降程度更大, 说明干旱胁迫下AOX途径受抑后, 叶片发生了更严重的光抑制。

本研究表明, 干旱胁迫下AOX途径受抑后H₂O₂含量明显上升(图6), 而活性氧的产生在光抑

制发生的过程中扮演着重要的角色。活性氧的积累可以通过抑制D1蛋白的修复, 进而抑制D1蛋白周转(Murata等2007), 而 Q_B 是结合在D1蛋白上的, D1蛋白周转受抑会导致D1蛋白发生净降解, 最终造成 Q_B 接受电子能力的下降, 导致PSII受体侧 Q_A 到 Q_B 电子传递受阻。叶绿素荧光动力学曲线中J相的升高被作为PSII受体侧 Q_A 到 Q_B 电子传递受阻的一个指标(Strasser等2000, 2004; 李鹏民等2005)。在本研究中, 干旱胁迫下AOX途径受抑后J点上升、线性电子传递受阻(图5-A)都证明了这一点。当PSII受体侧 Q_A 到 Q_B 电子传递受阻后, 将不可避免的导致光合电子传递速率下降和PSII反应中心的关闭(图5), 进一步导致过剩激发能的积累(图5-B), 最终导致活性氧产生的增加, 而活性氧则通过抑制D1蛋白的周转和对光合机构膜系统的伤害来影响光合机构的正常功能(Allakhverdiev和Murata 2004; Allakhverdiev等2002)。

我们实验室前期研究发现, 在强光条件下, AOX途径的上调可以有效消耗叶绿体内过剩的还原力, 缓解光抑制(Zhang等2011, 2012)。AOX途径或许通过苹果酸-草酰乙酸穿梭等过程直接消耗过剩还原力, 或许通过维持光呼吸的运行以优化光合碳同化防止过剩光能的产生, 从而缓解光合作用光抑制。至于干旱胁迫下AOX途径的光破坏防御的具体机制, 本实验的结果还无法阐明这个问题, 尚需进一步的研究来阐明。

综上所述, 干旱胁迫下的平邑甜茶叶片AOX蛋白及活性有效的上调能够维持光合电子传递链的正常运行, 避免过刺激能能的积累和活性氧的过量产生, 从而减缓了平邑甜茶叶片光抑制的发生。因此, 在一定的范围内, 干旱胁迫不会因为抑制与呼吸途径相关的酶活性而抑制AOX途径的活性, 相反, 干旱胁迫反而能使AOX的活性上调。因此在一定范围的干旱胁迫下, AOX途径在平邑甜茶的光破坏防御过程中起着更重要的作用。

参考文献

- 李鹏民, 高辉远, Strasser RJ (2005). 快速叶绿素荧光诱导动力学分析在光合作用研究中的应用. 植物生理学与分子生物学学报, 31 (6): 559~566
- 李勤报, 梁厚果(1988). 轻度水分胁迫的小麦幼苗中与呼吸有关的几种酶活性变化. 植物生理学报, 14 (3): 217~222
- 孟祥龙, 张立涛, 张子山, 高辉远, 孟庆伟(2012). 杂交酸模叶片线粒体交替氧化酶呼吸途径在光破坏防御中的作用. 应用生态学报, 23 (7): 1803~1808
- Allakhverdiev SI, Murata N (2004). Environmental stress inhibits the synthesis de novo of proteins involved in the photodamage-repair cycle of photosystem II in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Biochim Biophys Acta*, 1657: 23~32
- Allakhverdiev SI, Nishiyama Y, Miyairi S, Yamamoto H, Inagaki N, Kanasaki Y, Murata N (2002). Salt stress inhibits the repair of photodamaged photosystem II by suppressing the transcription and translation of *psbA* genes in *Synechocystis*. *Plant Physiol*, 130: 1443~1453
- Armstrong AF, Badger MR, Day DA, Barthelet MM, Smith PM, Millar AH, Whelan J, Atkin OK (2008). Dynamic changes in the mitochondrial electron transport chain underpinning cold acclimation of leaf respiration. *Plant Cell Environ*, 31: 1156~1169
- Bartoli CG, Gómez F, Martínez DE, Guiamet JJ (2004). Mitochondria are the main target for oxidative damage in leaves of wheat (*Triticum aestivum* L.). *J Exp Bot*, 55: 1663~1669
- Borecky J, Nogueira FTS, de Oliveira KAP, Maia IG, Vercesi AE, Arruda P (2006). The plant energy-dissipating mitochondrial systems: depicting the genomic structure and the expression profiles of the gene families of uncoupling protein and alternative oxidase in monocots and dicots. *J Exp Bot*, 57: 849~864
- Chaves MM (1991). Effects of water deficits on carbon assimilation. *J Exp Bot*, 42: 1~6
- Czarna M, Jarmuszkiewicz W (2005). Activation of alternative oxidase and uncoupling protein lowers hydrogen peroxide formation in amoeba *Acanthamoeba castellanii* mitochondria. *FEBS Lett*, 579: 3136~3140
- Genty B, Briantais JM, Baker NR (1989). The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim Biophys Acta*, 990: 87~92
- Liu YD, Ren DT, Pike S, Gassmann W, Zhang SQ (2007). Chloroplast-generated reactive oxygen species are involved in hypersensitive response-like cell death mediated by a mitogen-activated protein kinases cascade. *Plant J*, 51: 941~954
- Maxwell DP, Nickels R, McIntosh L (2002). Evidence of mitochondrial involvement in the transduction of signals required for the induction of genes associated with pathogen attack and senescence. *Plant J*, 29: 269~279
- Maxwell K, Johnson GN (2000). Chlorophyll fluorescence—a practical guide. *J Exp Bot*, 51: 659~668
- McDonald AE (2008). Alternative oxidase: an inter-kingdom perspective on the function and regulation of this broadly distributed 'cyanide-resistant' terminal oxidase. *Funct Plant Biol*, 35: 535~552
- Moller IA, Bérczi A, van der Plas LHW, Lambers H (1988). Measurement of the activity and capacity of the alternative pathway in intact plant tissues: identification of problems and possible solutions. *Physiol Plant*, 72: 642~649
- Murata N, Takahashi S, Nishiyama Y, Allakhverdiev SI (2007). Photoinhibition of photosystem II under environmental stress. *Biochim Biophys Acta*, 1767: 414~421
- Noguchi K, Yoshida K (2008). Interaction between photosynthesis and respiration in illuminated leaves. *Mitochondrion*, 8: 87~99
- Patterson BD, Macrae EA, Ferguson IB (1984). Estimation of hydrogen peroxide in plant extraces using titanium (IV). *Anal Biochem*, 139: 487~492
- Strasser BJ, Strasser RJ (1995). Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: the JIP test. In: Mathis P (ed). *Photosynthesis: from Light to Biosphere*. Dordrecht: KPA Press, 977~980
- Strasser RJ, Srivastava A, Tsimilli-Michael M (2000). The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic sample. In: Yunus M, Pathre U, Mohanty P (eds). *Probing Photosynthesis: Mechanism, Regulation and Adaptation*. London: Taylor and Francis Press, 445~483
- Strasser RJ, Tsimilli-Michael M, Srivastava A (2004). Analysis of the chlorophyll a fluorescence transient. In: Papageorgiou G, Govindjee (eds). *Advances in Photosynthesis and Respiration*. Netherlands: KAP Press, 1~47
- Thordal-Christensen H, Zhang Z, Wei Y, Collinge DB (1997). Subcellular localization of H₂O₂ in plants: H₂O₂ accumulation in papillae and hypersensitive response during the barley-powdery mildew interaction. *Plant J*, 11: 1187~1194
- Vanlerberghe GC, McIntosh L (1997). Alternative oxidase: from gene to function. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 48: 703~734
- Wanger AM (1995). A role for active oxygen species as second messengers in the induction of alternative oxidase gene expression in *Petunia hybrida* cells. *FEBS Lett*, 368: 339~342
- Yoshida K, Terashima I, Noguchi K (2007). Up-regulation of mitochondrial alternative oxidase concomitant with chloroplast over-reduction by excess light. *Plant Cell Physiol*, 48: 606~614
- Zhang LT, Zhang ZS, Gao HY, Meng XL, Yang C, Liu JG, Meng QW (2012). The mitochondrial alternative oxidase pathway protects the photosynthetic apparatus against photodamage in *Rumex K-1* leaves. *Plant Biol*, 12: 40
- Zhang LT, Zhang ZS, Gao HY, Xue ZC, Yang C, Meng XL, Meng QW (2011). Mitochondrial alternative oxidase pathway protects plants against photoinhibition by alleviating inhibition of the repair of photodamaged PSII through preventing formation of reactive oxygen species in *Rumex K-1* leaves. *Physiol Plant*, 143: 396~407